

博士(医学) 坂部 純一

論文題目

Jun-ichi Sakabe, Mami Yamamoto, Satoshi Hirakawa, Akira Motoyama, Isao Ohta, Kazuki Tatsuno, Taisuke Ito, Kenji Kabashima, Toshihiko Hibino, Yoshiki Tokura:
Kallikrein-related peptidase 5 functions in proteolytic processing of profilaggrin in cultured human keratinocytes

(カリクレイン関連ペプチターゼ5が培養ヒト角化細胞でのプロフィラグリンのプロセッシングにおいて機能する)

論文審査の結果の要旨

フィラグリンはプロフィラグリンとして表皮顆粒層で産生され、角化に伴いプロセッシングを受けてフィラグリンモノマーとなりバリア機能を担う。近年その分子異常がアトピー性皮膚炎の病態に寄与することが報告され注目された。申請者はフィラグリンモノマーの産生機序を解明すべく、ヒトのプロフィラグリンのプロセッシングに関与する酵素の同定を試みた。まずリコンビナントヒトプロフィラグリンタンパク (rhFLG) を作成し、表皮細胞抽出液中のプロフィラグリン分解関連酵素の同定を試みた。イオン交換クロマトグラフィーによる分画と LC/MS/MS 法による解析により、カリクレイン5 (KLK5) を候補蛋白として同定した。精製 KLK5 は rhFLG を効率良く分解し、その分解は KLK5 の中和抗体および特異阻害薬により阻害された。正常ヒト表皮角化初代培養細胞へ KLK5 shRNA を導入して KLK5 の発現を抑制すると、プロフィラグリンのプロセッシングが阻害された。一方 scramble shRNA を導入した細胞では正常にプロセッシングされた。ヒト正常皮膚検体を用いてフィラグリンと KLK5 の局在を蛍光免疫組織化学染色法、proximity ligation assay 法、免疫電子顕微鏡法を用いて検討した結果、両分子は表皮顆粒層内で 40 nm 以内の距離に共局在している事が確認できた。

これらの結果より申請者は、ヒトの生体内において KLK5 は、プロフィラグリンのプロセッシングを行い、フィラグリンモノマーを作出するための重要な役割を担っており、正常な表皮バリア機能の維持に寄与していると結論づけた。審査委員会は表皮バリア機能発現に不可欠なフィラグリン産生に KLK5 が関わる事を初めて明らかにし、新規の治療法の確立の可能性を示した点を高く評価した。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 浦野 哲盟

副査 梅村 和夫 副査 福家 辰樹